

Pengaruh Radiasi Gamma Terhadap Jumlah Leukosit, Prosentase Limfosit pada Organ Limfoid dan Histologi Hepar Mencit (*Mus mukul*) yang Telah Diberi Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Fitri Oktafiani^{1)*}, Drs. Unggul P. Juswono M.Sc²⁾, dr. Kusharto, M.Pd³⁾

¹⁾ Mahasiswa Jurusan Fisika, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang (oktafianifitri@gmail.com)

²⁾ Dosen Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

³⁾ Dosen Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang

ABSTRAK

Sistem imun merupakan sistem yang sangat penting untuk mempertahankan homeostatis dan kesehatan tubuh. Gangguan pada sistem ini dapat menyebabkan daya tahan tubuh menurun. Penurunan sistem imun akibat paparan radiasi dapat diketahui dengan melihat populasi sel leukosit dan limfosit pada organ limfoidnya. Populasi sel leukosit dan limfosit diamati menggunakan *hemocytometer* dan *flowcytometer*, sedangkan paparan radiasi diberikan menggunakan Pesawat Teleterapi Cobalt-60 dengan variasi 5 dosis yaitu 100, 200, 300, 400, dan 500 Rad. Hasil penelitian menunjukkan paparan radiasi 100 sudah dapat menurunkan populasi kedua sel dengan nilai rata-rata sebesar $\pm 20\%$. Pada pemberian radiasi hingga 500 rad, populasi kedua sel menurun lebih dari 80% dari kontrolnya. Penambahan antioksidan sangat berguna dalam menangkal radikal bebas yang terbentuk dari interaksi radiasi dengan sel. Salah satu tanaman yang diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi yaitu *Phyllanthus niruri* L atau meniran. Meniran memiliki senyawa flavanoid yang dapat menangkap radikal bebas melalui proses *free radical scavenging*. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian ekstrak meniran dapat meningkatkan jumlah populasi sel leukosit dan limfosit pada organ limfoid. Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan terhadap sel nekrosis pada histologi hepar mencit. Ekstrak meniran mampu mempertahankan sel hepatosit hingga 23,72% dari nekrosis akibat paparan radiasi.

Kata kunci: Radiasi Gamma, Limfosit, Leukosit, Hepar, *Phyllanthus niruri* L.

PENDAHULUAN

Sistem imunitas tubuh merupakan suatu sistem yang sangat kompleks dengan berbagai mekanisme dalam usaha mempertahankan homeostatis dan kesehatan tubuh. Respon imunitas tubuh membutuhkan sel leukosit yang berasal dari sel stem pada sumsum tulang. Pada leukosit terdapat agen imun utama yaitu sel-sel limfosit. Sel-sel limfosit menempati organ-organ tertentu yang disebut sebagai organ limfoid. [1]

Organ limfoid merupakan organ yang berfungsi memproduksi dan menyimpan sel-sel imun seperti leukosit dan makrofag. Sel-sel penyusun organ limfoid memiliki indeks mitosis yang tinggi. Jika indeks mitosis suatu sel tinggi maka proses proliferasi pada sel tersebut tergolong sangat cepat. Radiasi lebih mudah mencederai sel pada saat sel tersebut memasuki

fase mitosisnya, sehingga sel-sel pada organ limfoid digolongkan sangat radiosensitive terhadap paparan radiasi. Radiasi dapat menurunkan tingkat proliferasi sel-sel pada organ limfoid.[2]

Organ limfoid dibagi menjadi organ limfoid primer dan organ limfoid sekunder. Organ yang tergolong dalam organ limfoid primer yaitu sumsum tulang dan timus. Sumsum tulang merupakan organ yang berfungsi dalam sistem pembentukan darah. Paparan radiasi dosis tinggi pada sumsum tulang dapat mengakibatkan kematian jaringan tersebut dalam jangka waktu beberapa minggu. Hal ini disebabkan karena radiasi dapat menurunkan jumlah sel basal pada sumsum tulang secara tajam. Dosis sekitar 500 Rad sudah dapat menyebabkan penekanan proses pembentukan komponen sel darah pada sumsum tulang sehingga jumlahnya mengalami penurunan. Sel-

sel limfosit yang mengalami pematangan di sumsum tulang disebut sebagai limfosit B, sedangkan sel limfosit yang masih bersifat *immature* akan didistribusikan ke organ timus.[2]

Didalam timus, limfosit mengalami proliferasi intensif dimana proses proliferasi ini tidak bergantung pada stimulasi antigen, setelah berdiferensiasi limfosit pada organ timus atau limfosit T akan didistribusikan menuju organ limfoid perifer yang termasuk didalamnya yaitu organ limpa. Limpa berfungsi sebagai *complicated filter* yang disisipkan dalam peredaran darah untuk membersihkan darah dari zat renik dan sel-sel darah yang telah tua. Limpa juga terlibat dalam pertahanan imun terhadap antigen yang terbawa darah. [1,3]

Pada terapi-terapi kanker paparan radiasi sangat memungkinkan mengenai organ limfoid. Apabila sistem kekebalan di daerah tersebut menurun maka bakteri dan virus akan mudah menyerang. Sistem imun yang terganggu akibat radikal bebas dari interkasi radiasi dengan sel dapat dilindungi dengan jalan memberikan antioksidan ke dalam tubuh. Salah satu tanaman yang diketahui banyak mengandung antioksidan yaitu *Phyllanthus niruri L* atau dikenal juga dengan nama meniran. [4]

Hati (hepar) adalah organ terbesar dan mempunyai fungsi metabolisme paling kompleks di dalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar metabolisme obat dan toksikan. Sel utama penyusun hepar adalah hepatosit. Hepatosit merupakan sel utama yang bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Radikal bebas hasil interkasi radiasi dengan sel dapat menyebabkan sel-sel hepatosit mengalami nekrosis. Ekstrak meniran diketahui bersifat hepatoprotektor sehingga diharapkan pemberian ekstrak meniran dapat melindungi hepar dari nekrosis akibat paparan radiasi. [5]

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini digunakan 60 ekor mencit betina, usia 2 bulan dengan strain Balb/c dan berat badan rata-rata 25 gr. Mencit tersebut dikelompokkan menjadi kontrol positif (K+) yaitu kelompok tanpa perlakuan radiasi dan pemberian ekstrak, kontrol negatif (K-) yaitu

kelompok tanpa pemberian radiasi dengan penambahan ekstrak, kelompok radiasi tanpa ekstrak (RNE) dan kelompok radiasi dengan ekstrak (RE). Pada tiap kelompok perlakuan diberikan lima variasi dosis yaitu 100, 200, 300, 400 dan 500 rad, sedangkan pada perlakuan dengan ekstrak meniran diberikan dosis tunggal yaitu 250 mg/kg BB mencit.

Pemberian Ekstrak Meniran. Ekstrak meniran dibuat menggunakan simplisia meniran yang diekstraksi dengan pelarut air. Pemberian dosis ekstrak meniran pada mencit dihitung berdasarkan berat badan masing-masing mencit. Ekstra meniran diberikan satu kali dalam sehari selama 14 hari sebelum mencit diradiasi dan pada saat mencit diradiasi.

Pemberian Paparan Radiasi Gamma. Paparan radiasi diberikan menggunakan pesawat Teleterapi Cobalt-60 di Radioterapi RSUD. Syaiful Anwar. Radiasi diberikan secara fraksinasi dengan besar dosis 100 rad setiap satu kali pemberian, sehingga pada perlakuan 500 rad dosis terakumulasi dalam 5 hari. Kondisi penyinaran menggunakan SSD (*Source to Surface Distance*) 80 cm dari permukaan dan luas lapangan penyinaran 10 x 10 cm.

Isolasi sel. Isolasi sel dilakukan 24 jam pasca pemberian radiasi gamma. Proses isolasi sel yang pertama yaitu pengambilan sumsum tulang dari pangkal paha mencit, sedangkan timus dan *spleen* digerus menggunakan *wire* kemudian ditambah dengan larutan PBS 1 ml. Proses kedua yaitu larutan disentrifugasi 2500 rpm pada suhu 4° selama 5 menit untuk memisahkan antara supernatan dengan pellet yang kemudian diresuspensi lagi dengan PBS sebanyak 1ml, setelah itu dilakukan pipeting untuk mendapatkan homogenat.

Perhitungan Jumlah Sel. Untuk analisis sel leukosit, diambil 20 µl homogenate dan ditambahkan 80 µl *tryphan blue* sebagai pewarna sel kemudian dipipeting. Sebanyak 10 µl dari hasil suspensi diletakkan pada *hemocytometer* lalu diamati. Perhitungan dilakukan dengan mengamati sel hidup pada 5 kotak *hemocytometer* dengan metode zigzag. Hasil dari perhitungan sel diolah untuk mendapatkan jumlah sel leukosit absolute menggunakan persamaan berikut :

$$\Sigma \text{ Total sel} = \Sigma \text{ sel} \times \text{fp} \times 10^4 \times 5$$

Untuk perhitungan sel limfosit digunakan *flowcytometer* kemudian dianalisis menggunakan software *BD Cell Quest ProTM*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Interaksi radiasi dengan sel dapat menyebabkan kerusakan bahkan kematian sel. Peristiwa interaksi ini terjadi melalui 4 fase sebelum sel mengalami kerusakan bahkan kematian akibat radiasi. Fase awal interaksi radiasi dengan sel yaitu berupa absorpsi energi radiasi pengion yang menyebabkan terjadinya eksitasi dan ionisasi pada molekul atau atom penyusun bahan biologi (fase fisik). [6]

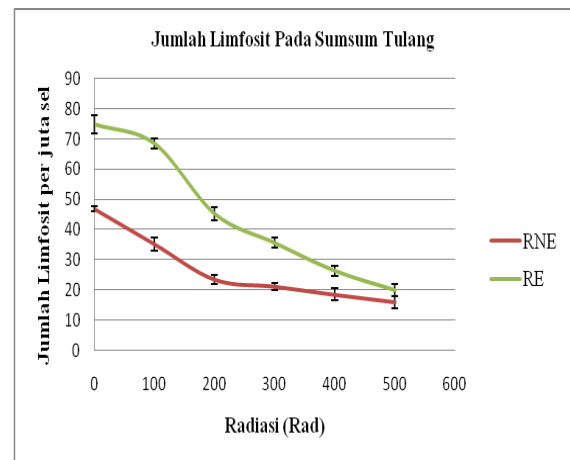
Fase kedua yaitu fase fisikokimia dimana molekul yang terbentuk dari peristiwa ionisasi akan bereaksi dengan molekul-molekul lain membentuk radikal bebas didalam sel. Fase ketiga yaitu fase kimia biologi, pada fase ini radikal bebas akan berikatan dengan komponen-komponen penting penyusun sel yaitu *polyunsaturated fatty acid* (PUVA) yang merupakan penyusun membran sel, protein yang berfungsi untuk pembentukan energi dan penyokong aktivitas sel serta DNA yang membentuk kromosom didalam nukleus (inti sel). [7]

Fase terakhir yaitu fase biologi dimana kerusakan sel akibat radiasi sudah dapat teramati. Kerusakan sel-sel imun dapat diketahui dengan melihat jumlah populasi sel leukosit dan limfositnya. [1]

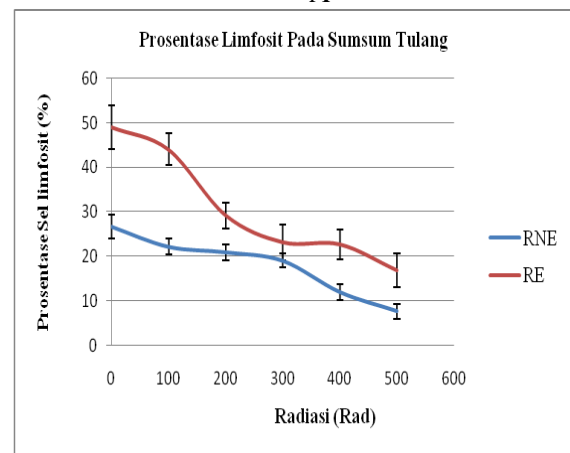
Pengaruh Radiasi Terhadap Jumlah Sel Leukosit dan Limfosit Pada Organ Limfoid. Pada sumsum tulang terdapat sel punca hematopoetik yang berfungsi membentuk sel darah merah, sel darah putih, dan keping darah yang sehat. Gambar 1. menunjukkan bahwa radiasi dapat mempengaruhi sel punca hematopoetik dengan adanya penurunan jumlah sel leukosit. Semakin besar dosis radiasi yang diberikan, produksi jumlah leukosit semakin menurun, hal ini berakibat pada penurunan prosentase limfositnya.

Efek penurunan jumlah leukosit dan limfosit pada sumsum tulang menyebabkan jumlah populasi sel pada organ timus ikut menurun. Pada organ ini radiasi 100 rad sudah

memberikan jumlah penurunan yang signifikan terhadap kontrol.

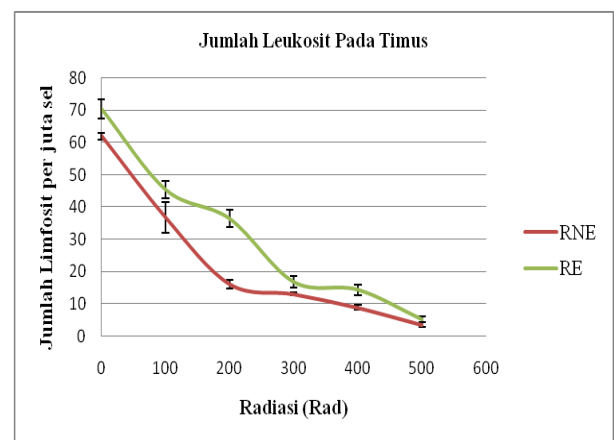


A

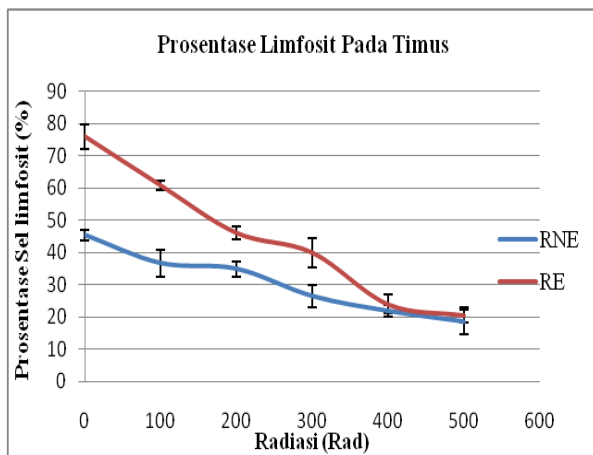


B

Gambar 1. (A) Jumlah Leukosit Pada Sumsum Tulang. (B) Prosentase Limfosit Pada Sumsum Tulang.

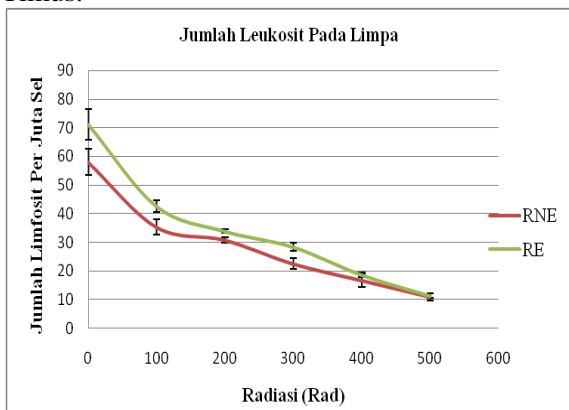


A

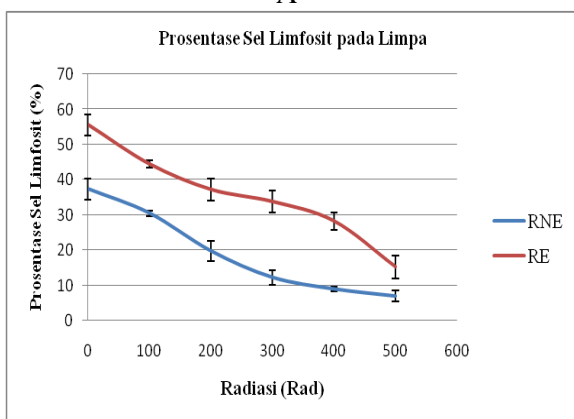


B

Gambar 2. (A) Jumlah Leukosit Pada Organ Timus. (B) Prosentase Limfosit Pada Organ Timus.



A



B

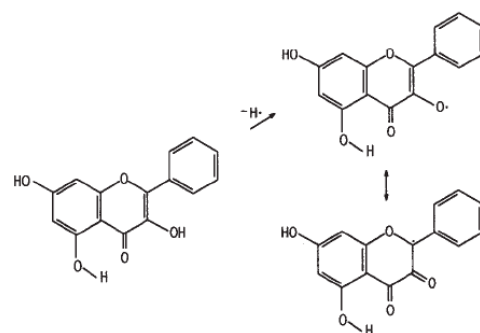
Gambar 3. (A) Jumlah Leukosit Pada Organ Limpa (B) Prosentase Limfosit Pada Organ Limpa.

Penurunan produksi sel-sel leukosit dan limfosit pada sumsum tulang juga berdampak pada jumlah sel leukosit dan limfoid pada organ limfoid sekunder salah satunya organ limpa.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran Terhadap Jumlah Leukosit dan Limfosit. Pada Gambar 1, Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan perlakuan radiasi dengan ekstrak memiliki jumlah leukosit dan prosentase limfosit lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan radiasi tanpa ekstrak. Hal ini disebabkan ekstrak meniran mengandung senyawa antioksidan flavanoid yang dapat menangkal radikal bebas melalui proses *free radical scavenging* yaitu dengan memberikan satu atom hidrogen dari gugusnya untuk bereaksi dengan radikal bebas. Flavanoid yang telah mendonasikan atom hidrogennya akan mengandung atom *singlet oxygen* (O_2^*) yang bersifat radikal. [8]

Cincin benzene dalam flavonoid tergolong dalam ikatan aromatik yaitu suatu sifat kimia terkonjugasi yang memiliki ikatan jenuh (tunggal) dan tak jenuh (ganda), dimana ikatan ini akan berpindah-pindah karena sifat elektronnya yang berputar-putar didalam strukturnya. Apabila elektron yang berpindah ini berpasangan dengan *singlet oxygen* maka elektron tersebut akan menstabilkan sifat radikal pada *singlet oxygen*. [8]

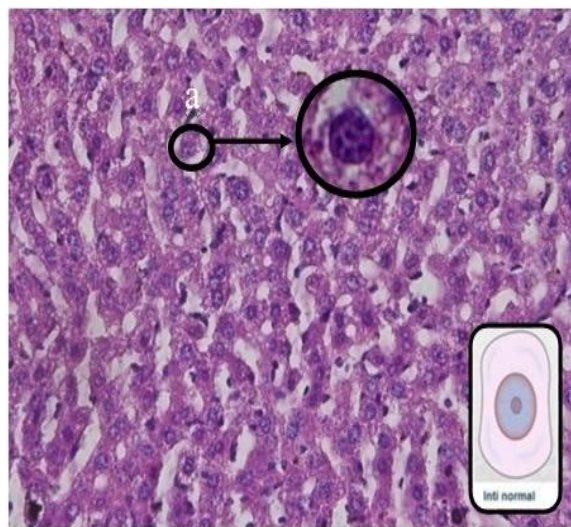
Berikut gambaran dari proses *free radical scavenging* dan delokalisasi elektron pada flavanoid :



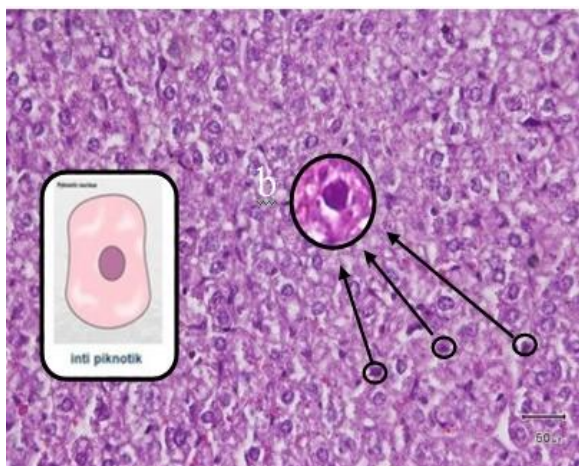
Gambar 4. Proses *free radical scavenging* dan delokalisasi elektron pada flavanoid.

Pengaruh Radiasi dan Ekstrak Meniran Terhadap Hepar. Sel hepatosit juga tergolong sebagai sel yang sangat radiosensitif. Pemberian radiasi dapat menyebabkan sel ini mengalami nekrosis. Pada pemberian radiasi 100 rad sudah dapat terlihat sel hepatosit yang mengalami piknotik. Piknotik merupakan tahap awal terjadinya nekrosis. Sel piknotik memiliki

ciri inti yang berkerut dan berwarna gelap akibat paparan radiasi. [9]



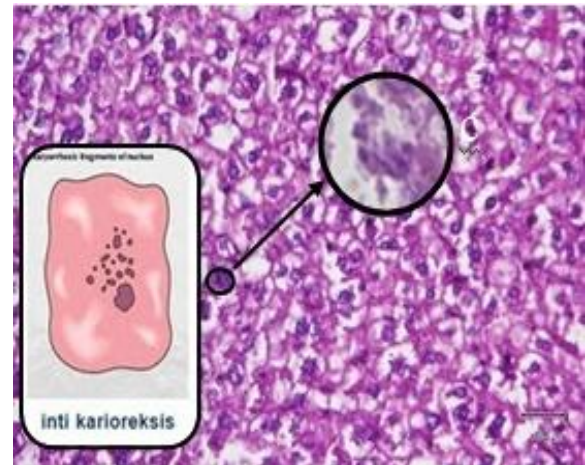
A



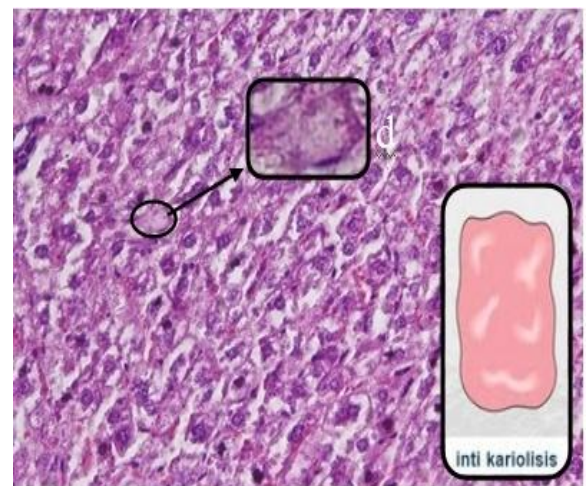
B

Gambar 5. (A) menunjukkan sel hepatosit normal. (B) Histologi Hepar Radiasi 100 tanpa ekstrak, poin b menunjukkan sel hepatosit dalam tahap piknotik.

Penambahan dosis radiasi mengakibatkan sel hepatosit mengalami tahap nekrosis lanjut yaitu karioreksis dan kariolisis. Sel karioreksis ditunjukkan pada Gambar 6 (A) dimana membran inti sel telah mengalami lisis sehingga tidak dapat lagi terlihat batas inti sel, selain itu densitas antar kromosom meningkat. Pada Gambar 6 (B) inti sel telah hilang tercerna sehingga tidak dapat terwarnai lagi. Sel kariolisis menyebabkan adanya rongga-rongga antar sel hepatosit. [9]



A

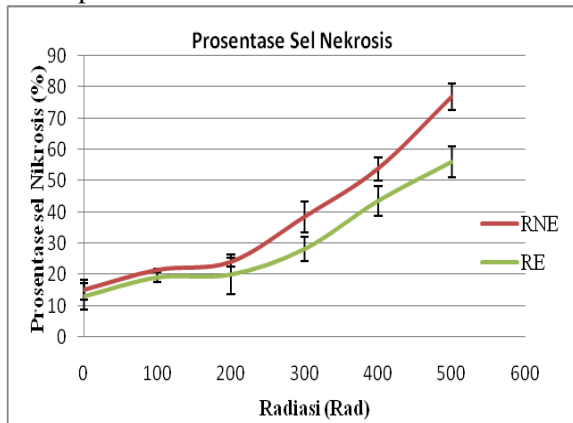


B

Gambar 6. (A) Histologi Hepar Pada Penambahan Dosis Radiasi, poin c Menunjukkan Sel Hepatosit dalam Tahap Karioreksis. (B) Histologi Hepar Pada Penambahan Dosis Radiasi, poin d Menunjukkan Sel Hepatosit dalam Tahap Kariolisis.

Kerusakan sel hepatosit akibat radiasi dapat terjadi karena radikal bebas yang terbentuk menyerang komponen sel hepatosit. Meniran berfungsi untuk mendorong perbaikan sel-sel hepatosit dengan cara meningkatkan jumlah enzim yang berperan dalam antioksidan salah satunya yaitu Superoksida Dismutase (SOD). Superoksida dismutase merupakan enzim antioksidan terbanyak di dalam tubuh, yang sebagian besar dari enzim ini terletak di organ hati. Kandungan mineral pada meniran dapat menghambat aktifitas enzim SOD. [10] Sehingga pada perlakuan radiasi ekstrak jumlah sel nekrosisnya lebih kecil dibandingkan dengan

perlakuan tanpa ekstrak, hal ini dapat dilihat pada Gambar 7 dibawah yang menunjukkan perbandingan prosentase sel nekrosis pada kedua perlakuan :



Gambar 7. Perbandingan Prosentase Sel Nekrosis Pada Perlakuan Radiasi Non Ekstrak (RNE) dan Radiasi Ekstrak (RE)

KESIMPULAN

Radiasi mampu menurunkan jumlah leukosit dan limfosit pada sumsum tulang, timus dan limpa. Pemberian ekstrak meniran meningkatkan populasi kedua sel dengan jalan menguraikan radikal bebas yang terbentuk dari radiasi menjadi senyawa yang lebih stabil. Ekstrak meniran juga dapat mempertahankan hepar dari nekrosis akibat paparan radiasi, sehingga Ekstrak meniran dapat berfungsi sebagai antioksidan sekaligus sebagai tanaman hepatoprotektor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Drs. Unggul P. Juswono, M.Sc dan Bapak dr. Kusharto M.Pd di Jurusan Fisika, Fakultas Mipa, Universitas Brawijaya yang telah membantu penulis dalam membimbing selama penelitian hingga terselesainya penulisan jurnal.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rifa'i, M. (2011). Autoimun dan Bioregulator. UB Press, Malang.
- [2] David, C. S. (1987). Essential of Surgery. W.B Saunders Co., Philadelphia.

- [3] Bloom and Fawcett (2002). Buku Ajar Histologi. Jakarta, ECG.
- [4] Ifandari, Suranto, et al. (2012). "Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran Merah (*Phyllanthus urinaria*) terhadap Penekanan Jumlah Limfosit pada Organ Timus Mencit Balb/C yang diinfeksi bakteri *Salmonella thypi*." Bioteknologi **9**: 1-6.
- [5] Junqueira, L., C. J. Carneiro, et al. (2005). Histologi Dasar. Penerbit Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- [6] Verbruggen, A. (2012). Health Effects of Ionising Radiation. K.U Lauren, USA.
- [7] Suryohudoyo, P. (2012). Oksidan, Antioksidan dan Radikal bebas. Biokimia Kedokteran Unair, Surabaya.
- [8] Amic, D., D. D. Amic, et al. (2003). "Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavanoids." Croatica Chemica Acta **76**: 55-61.
- [9] Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (1999). Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, New York.
- [10] Manjrekar, A. P., V. Jisha, et al. (2008). "Effect of *Phyllanthus niruri* Linn. Treatment on Liver, Kidney and Testes in CCl₄ Induced Hepatotoxic Rats." Indian Journal of Experimental Biology **46**: 514-520.